

柿内 聡志 論文内容の要旨

主 論 文

Accuracy of High-Throughput Nanofluidic PCR-Based Pneumococcal Serotyping and Quantification Assays Using Sputum Samples for Diagnosing Vaccine Serotype Pneumococcal Pneumonia: Analyses by Composite Diagnostic Standards and Bayesian Latent Class Models

喀痰検体を用いた高処理ナノ流体 PCR 法による肺炎球菌血清型の同定・定量検査のワクチン血清型肺炎球菌性肺炎の診断精度について：複合的診断基準とベイズ潜在クラスモデルによる分析

柿内 聡志、鈴木 基、Bhim Gopal Dhoubhadel、古本 朗嗣、伊藤 博之、松木 啓、土橋 佳子、麻生 憲史、安波 道郎、有吉 紅也、森本 浩之輔

(*Journal of Clinical Microbiology*, 2018 掲載予定)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：有吉 紅也教授)

緒 言

肺炎球菌性肺炎は我が国における感染症による成人死亡原因の上位の疾患であり、肺炎球菌性肺炎の罹患率や血清型分布を正確に知ることが公衆衛生学上重要である。肺炎球菌性肺炎患者を同定するために、喀痰培養で得られた菌株を用いた莢膜膨化反応以外にも、ファイザー社が近年開発した血清型特異的尿中莢膜抗原検査法 (UAD) や、当研究室で開発した、喀痰 DNA を用いた血清型特異的ナノ流体定量 PCR 法 (nanofluidic Sp-qPCR) が疫学研究に使用された成果が報告されているが、これらの診断精度はいまだ確立されていない。そこで、我々は莢膜膨化反応、UAD、nanofluidic Sp-qPCR における 13 価肺炎球菌蛋白結合型ワクチン (PCV13) 血清型特異的成人肺炎球菌性肺炎の診断精度を、複数の検査結果を組み合わせる複合的診断基準 (CDS) と、すべての検査法の精度は不完全であるという前提のもと、検査結果の組み合わせから精度を推定するベイズ潜在クラスモデル (BLCMs) を用いて評価した。

対象と方法

2012-2014 年に長崎市の市中病院で患者を登録した。登録基準は 1) 15 歳以上、2) 肺炎症状の出現、3) 胸部画像所見にて新規浸潤影を認める、とし、入院後 48 時間以上経過後の発症患者は除外した。登録された患者から喀痰検体、尿検体を採取した。喀痰培養にて分離された培養株を用いて莢膜膨化反応を行い、血清型を同定した。また喀痰検体から DNA を抽出し *lytA* 遺伝子領域を標的にリアルタイム PCR にてスクリーニ

ングし、*lytA* 陽性検体に対して nanofluidic Sp-qPCR を行った。尿検体は米国のファイザー社へ送付し UAD を行った。解析は nanofluidic Sp-qPCR に対しては、PCV13 血清型について莢膜膨化反応と UAD 結果を基とした CDS 解析と、すべての検査結果に対して BLCMs を行い、精度を評価した。

結 果

244 例を解析対象とした。60%が市中肺炎、40%が医療関連肺炎であった。8%で 23 価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン接種歴があった。定量培養のカットオフを 1×10^5 CFU /ml、PCR 検査のカットオフを 1.0×10^4 DNA copies/ml と設定したところ、PCV13 血清型肺炎球菌性肺炎に対する nanofluidic Sp-qPCR の診断精度は CDS では感度 83.3%(95%信頼区間 (CI) 65.3-94.4)、特異度 95.9% (95%CI 92.2-98.1)、BLCMs での nanofluidic Sp-qPCR、UAD、莢膜膨化反応の診断精度は、各々感度 90.2%(95% 信用区間 (CrI) 71.2-99.7)、75.6%(95% CrI 55.4-92.4)、45.8%(95% CrI 27.5-65.8)、特異度 96.9% (95%CrI 93.4-99.7)、97.9%(95% CrI 95.1-99.9)、99.5% (95% CrI 98.2-100) であった。nanofluidic Sp-qPCR による喀痰中の血清型特異的 DNA 量と UAD の検査結果を比較したところ、UAD 陽性例の血清型特異的 DNA 量の中央値は、UAD 陰性例に比べ有意に高値であった (それぞれ 1.1×10^8 DNA copies/ml、 1.2×10^5 DNA copies/ml、 $p=0.036$)。

考 察

本研究では、nanofluidic Sp-qPCR による喀痰中肺炎球菌血清型同定法は、菌株の莢膜膨化反応や新規開発された UAD よりも感度に優れ、また特異度はほぼ同等であった。検査法の精度評価の問題点の一つとして、基となる検査法の不完全な感度・特異度が精度評価結果に影響を与えることが挙げられるが、本研究では精度が完全な検査法の存在を前提としない BLCMs を用いることで、nanofluidic Sp-qPCR のより正確な精度推定を行うことができた。nanofluidic Sp-qPCR の利点の一つとして、45 検体、50 血清型を一度に検査できる高いサンプル処理能力が挙げられる。感度、特異度がともに高い本検査法を用いることで、ハイスループットにワクチン血清型を含めた肺炎球菌性肺炎の血清型分布をより正確に評価することができ、成人における肺炎球菌性肺炎の疫学調査に有用であると考えられる。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。